

# BOLETÍN DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

**Distributional note of the world species of *Paracymus Thomson, 1867* (Coleoptera: Hydrophilidae) in five biogeographical regions.**

*Mauricio García and Nadiany Castillo*..... 1

***Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. more than halophyte a halotolerant species.**

*Ana Marta Francisco* ..... 12

**Identificación de amebas de vida libre y amebas testadas en sedimentos marinos usando sonda de ADN.**

*Silvana Pertuz Belloso*..... 33

## *Comunicación Breve.*

**Nuevo registro de *Dysdercus collaris* Blöte, 1931 (Hemiptera: Heteroptera: Pyrrhocoridae) como hospedero de *Pavonia paniculata* Cav. (Malvales: Malvaceae).**

*Jorge Gámez*..... 53

**Instrucciones a los autores**..... 60

**Instructions for authors**..... 70

**Vol. 59, N<sup>o</sup> 1, Pp. 1-79, Enero-Junio 2025**

UNA REVISTA INTERNACIONAL DE BIOLOGÍA PUBLICADA  
POR  
LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA, MARACAIBO, VENEZUELA



## Identificación de amebas de vida libre y amebas testadas en sedimentos marinos usando sonda de ADN.

Silvana Beatriz Pertuz Beloso<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Fundación B Chemokines Molecules and Therapies. Pachuca de Soto. Estado de Hidalgo. México. C.P. 42000.

<sup>2</sup>Academia de Algas y protistas. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. Sede de Investigación: Laboratorio de Biología de Algas y protistas. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. CÓDIGO ORCID: 0000-0002-0663-2987.

### RESUMEN

Las amebas de vida libre pertenecientes a *Gymnamoeba* suelen tener miembros importantes en suelo, sedimentos, y otros ecosistemas clásicamente reservorios de agua. En los ecosistemas acuáticos marinos prevalecen especies que pertenecen a otras clases taxonómicas. En esta descripción se encontraron principalmente especies de *Acanthamoeba* en sedimentos junto a especies de *Mayorella*. Otros géneros identificados pertenecían a ambientes marinos, tales como *Vexilifera*. Especies marinas de amebas testadas también fueron identificadas en sedimentos, principalmente especies de *Arcella*. Este estudio fue realizado en el banco de manglares del Morro (Veracruz); zona en la cual fue realizado el muestreo de sedimentos; bajo un procedimiento de tamizaje y dilución con solución salina (0,8%) hasta la obtención de un sobrenadante, que permitió el montaje de estos protistas para microscopía de fluorescencia y su identificación con una sonda fluorocromo que se une al ADN. En este trabajo se identificaron 6 géneros de *Gymnamoeba* y 2 géneros de amebas testadas por medio de identificación por sondas ADN que permitió analizar un catálogo de varias de las especies encontradas en sedimentos.

**Palabra clave:** *Gymnamoeba*, Arcelinidae, sedimentos, Golfo de México, protistas, amebas testadas, amebas de vida libre marinas, hábitat marino, manglares, y humedales.

## Identification of free living amoeba and testate amoeba from sediments using to DNA probes.

### ABSTRACT

The free living amoeba belong to Gymnamoeba have important members from soil and sediments, and the others aquatic ecosystems. In the sea aquatic ecosystems have species that belong an others taxonomic kind. We found in this description *Acanthamoeba* species and *Mayorella* species from sediments. Others genus founded belong to sea environment, as *Vexilifera*. Species from sea environment of testate amoeba were identified from sediments, as *Arcella* species. This study was realized in the mangroves bank from Morro (Veracruz); zone in which realized sampled of sediments, using to process of filter and dilution with saline solution (0.8%) until produce to supernatant for mounting this protist and their identification by fluorescence microscopy using to fluorocromo as DNA probes. In this work were identified 6 genera of Gymnamoeba and 2 genera of testate amoeba for identification by DNA probes by analyzed and build a cataloguist of many species founded from sediments.

**Key words:** Gymnamoeba, Arcelinidae, sediments, Golf of Mexico, protists, testate amoeba, sea free living amoeba, sea habitat, mangroves, and wetlands.

**Recibido / Received:** 07-03-2025 ~ **Aceptado / Accepted:** 30-05-2025

### INTRODUCCIÓN

Las amebas de vida libre son definidas como organismos Cosmopolitas cuya presencia ha sido reportada con más abundancia en ecosistemas de suelo (Singer *et al.* 2021). México tiene una gran abundancia de amebas de vida libre, existiendo más de 315 especies, algunas de las cuales han sido descritas como nuevas especies (Gallegos-Neyra *et al.* 2014). Los grupos más reportados en México son Arcelinida, Heterolobosea, y Acanthamoebida de acuerdo a los registros de Gallegos-Neyra *et al.* (2014).

Aquí en esta investigación se determinó el ensamblaje de amebas de vida libre utilizando el método de fluorescencia usando un fluorocromo como es el DAPI que interacciona con el ADN, en la zona de manglares de la costa veracruzana, un ecosistema poco estudiado en la microbiota asociada, en el cual y de acuerdo a los antecedentes, está sometida a condiciones fisicoquímicas como la presencia de partículas inorgánicas, pH entre 7.9, 7.9, temperatura media anual de 27.1°C y alta salinidad que oscila entre 6.1 a 17.1 partes por mil, condiciones bajo las cuales se encontraron protistas ameboideos y ciliados (Gómez Yáñez *et al.* 2011). La biodiversidad, entonces, de las amebas de vida libre ha sido estudiada en este trabajo usando una sonda clásica de ADN que permite el estudio de los núcleos y la morfología de estos protistas. Munyenembe *et al.* (2021), usando DAPI, esta sonda que interacciona con A-T del ADN, lograron identificar amebas testadas que normalmente no se pueden cultivar, como es el caso del grupo de Arcellinida.

El presente estudio de la biodiversidad de las amebas de vida libre y de las amebas testadas fue realizado en la región del Golfo de México en la zona de los manglares, es decir una región de ecosistemas de humedales, cuya característica principal es la formación de una rizosfera, en la cual, hay una zona de establecimiento de especies de eucariotas microbianos y otras especies (Pertuz, 1996). Los manglares mexicanos ocupan alrededor de 440 mil hectáreas hasta 1 millón y medio del territorio nacional. En Veracruz, Golfo de México, las zonas de manglares se extienden hasta 36, 237 hectáreas de la línea de la costa. De acuerdo a CONABIO (2009), una de las principales características de estos ecosistemas es la resistencia que tienen a los altos niveles de salinidad. Este organismo gubernamental señala que existen más de 4 especies de manglares, entre ellas el Mangle Rojo (*Rhizophora mangle*) es una de las especies más comunes del banco de manglar mexicano.

Fiore-Donno *et al.* (2016), en uno de los pocos estudios que existen sobre humedales o *Grassland* y prevalencia de protistas, encontraron metacomunidades de protistas ameboideos, de los cuales las amebas de vida libre desnudas o *Gymnamoeba*, fueron catalogados como los principales morfotipos y de mayor abundancia en el suelo. En estos humedales, los protistas con mayor preponderancia fueron miembros del *Phylum* Amebozoa, que incluye a las amebas desnudas o *Gimnamoeba* y amebas testadas, entre las cuales, se encontraron 20 especies de entre 1240 secuencias (Desde el “Eucarionte Universal”), siendo el género *Acanthamoeba* el más abundante en el suelo y en estos humedales.

En este contexto y de acuerdo a estos antecedentes el objetivo del trabajo fue analizar, usando una sonda fluorescente de ADN, los protistas ameboides asociados a los sedimentos muestreados en el manglar del Morro Veracruz, para caracterizar amebas de vida libre desnudas y testadas en sedimentos provenientes del banco de manglares del Morro (Veracruz, México), y determinar la ponderación y biodiversidad de amebas de vida libre y amebas testadas en muestras de sedimentos marinos.

En este estudio se identificaron 6 géneros de amebas de vida libre y 2 géneros de amebas de testadas en muestras de sedimentos en el banco de manglares veracruzanos, representando un estudio inédito en el análisis de la biodiversidad de protistas ameboides, principalmente amebozoa y amoebas filosas testadas que se han incluido también en los amebozoa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación de la zona de muestreo

Las muestras fueron colectadas en: El Morro de la Mancha, Región del Golfo de México. Banco de manglares Coordenadas: Latitud: 39.8878805. Longitud: -2.9379172 (Fig. 1).



**Figura 1.** Sitio de muestreo. El Morro. La mancha Veracruz, Golfo de México. México. El cuadrante indica el sitio de muestro de los sedimentos y la zona de manglares.

## Muestreo

**1. Zona de recolección.** Las muestras fueron colectadas en el manglar y la playa del Centro de Investigaciones Costeras, La Mancha (CICOLMA), ubicado en el estado de Veracruz, con un área de 70 ha de extensión. La zona tiene una altitud de 8 m, con una temperatura media anual que oscila entre los 22° y 26°, con una tasa de precipitación que varía entre los 1200 y 1500 mm anuales y con un clima tipo cálido subhúmedo con lluvias en verano de acuerdo a Gómez-Yáñez *et al.* (2011).

**2. Colección.** Se tomaron muestras de entre 10 a 50 g de suelo de la superficie, lodo del fondo del manglar y de la zona de las raíces en bolsas de cierre hermético; usando espátulas de acero inoxidable. Se agregó agua de mar para evitar desecación. Estas muestras se mantuvieron en refrigeración hasta su observación de acuerdo a Gómez-Yáñez *et al.* (2011).

**3. Muestras.** Un total de 47 muestras de sedimentos de entre 1 a 2 g fueron analizadas para el estudio de identificación de especies de amebas testadas y amebas de vida libre desnudas.

## Preparación de las muestras

Las muestras de sedimentos fueron colocadas en cajas Petri redondas [100 mm x 15 mm, Nacional] y lavadas varias veces con solución salina (0.85%), luego de lo cual estas fueron tamizadas, con una malla muy delgada. El sobrenadante fue diluido con PBS [NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.8 mM] y transferido a tubos cónicos de polipropileno (Falcón, 50ml), en los se dejó separar en fases. El sobrenadante es preservado y luego diluido nuevamente. Luego, una alícuota de este sobrenadante fue filtrado en el sistema de microfiltración [Millipore Soportes de acero inoxidable para membranas, USA] para su proceso de tinción por fluorescencia.

## DAPI de unión a ADN

Para la identificación de los protistas fueron utilizados cubos para el microscopio de la serie estándar AT (Nikon) DAPI/Hoechst/Alexa Flúor 350 (375/28) y EGFP/FITC/Cy2/Alexa Flúor 488 (480/30), de microscopio de fluorescencia [Karl Zeiss, USA]. DAPI presenta 345 nm de onda de excitación y 455 nm de onda de emisión. DAPI es un fluorocromo selectivo a AT [Adenina-Timina], que se une a ácidos nucleicos del ADN, y RNA, en menor medida (National Center for Biotechnology Information, 2024).

## Composición del ensamblaje de protistas

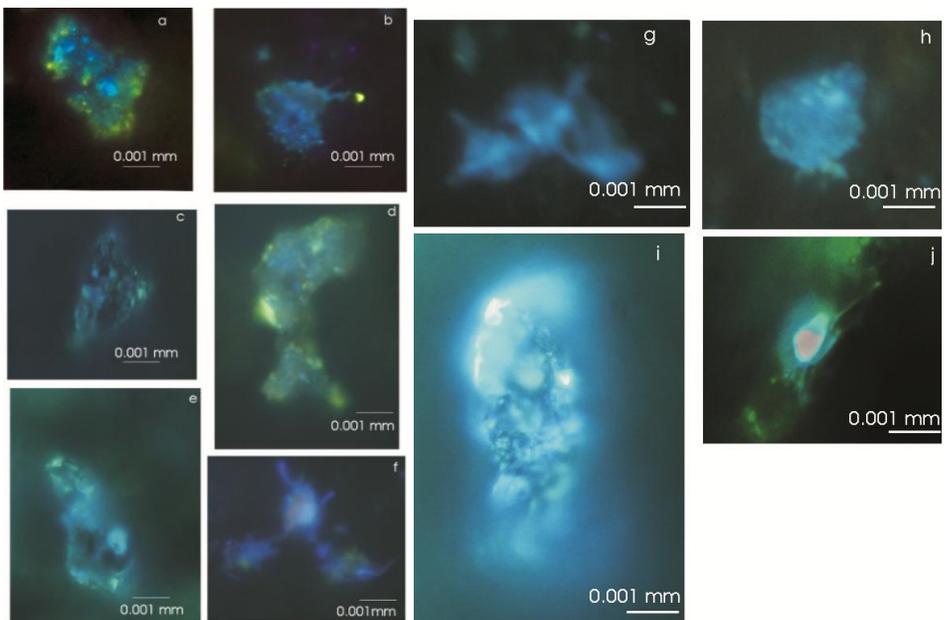
La composición de protozoarios fue analizada usando DAPI, una sonda fluorescente de DNA [2 mM]. Las muestras tratadas, como se describió anteriormente, se escanean por microscopía de fluorescencia y las microfotografías son generadas en el programa IMAGE-pro [Media Cybernetics, USA] para su análisis. La catalogación de las amebas de vida libre se realizó a partir de la clave taxonómica de Page (1976, 1983), y de Bovee y Sayer (1979), tomado en cuenta el tipo de núcleos y el tipo de pseudópodos. La identificación de las amebas testadas se realizó a partir del registro de especies marinas de amebas de WoRMS (2025) y amebas testadas de acuerdo a la clave visual de Siemensma (2019).

## RESULTADOS

Los protistas fueron identificados en muestras sedimentos de los manglares del Morro (Veracruz), usando una sonda fluorescente de ADN (DAPI). Los géneros encontrados en muestras de sedimentos del manglar veracruzano fueron principalmente amebas de vida libre, especialmente especies del género *Acanthamoeba*. Otros géneros encontrados son *Vahlkampfia*, *Hartmannella* y géneros marinos, como *Mayorella* y *Vannella*. Más sorprendente son las amebas testadas marinas, especialmente de los géneros *Arcellinida*, que son abundantes en estas muestras de suelo, con influjo marino. Dos géneros *Centropyxis* sp. y *Arcella* sp. fueron identificados en estas muestras de suelo y sedimentos de los manglares de Veracruz. *Acanthamoeba* perteneciente la Clase Lobosea, Subclase Gymnamoeba, familia Acanthamoebidae, fue uno de los géneros más preponderante entre los protozoarios examinados en estas muestras.

En la Figura 2a y 2b se pueden observar dos típicas *Acanthamoeba* con bacterias endosimbiontes. Los trofozoítos de  $<20\mu\text{m}$  y con filópodos, una de las características más importantes, fueron los protozoarios con mayor biodiversidad y preponderancia en muestras de sedimentos. *Vahlkampfia* sp. y *Hartmannella* sp., Clase. Lobosea, Subclase. Gymnamoeba, y pertenecientes a la familia Hartmannellidae y Vahlkampfiidae, fueron otros géneros de amebas de vida libre que se presentaron con mucha frecuencia entre las muestras de suelo (Figs. 2c y 2i). Géneros que también presentaron alta prevalencia fueron los géneros marinos, tales como *Mayorella* sp. y

*Vannella* sp. perteneciente a la clase Discosea, Subclase Longamoebia y Familia Dermamoebidae *incertae sedis*, se presentó prevalentemente en las muestras de sedimentos (Figs. 2d y e). *Vannella* sp. otro género marino importante en estas muestras pertenece a la clase Discosea, Subclase Vanellida y familia Vannellidae, de acuerdo a WORMS (Registro Mundial de Especies Marinas), (Fig. 2h). Un género emparentado de origen marino también y con cierta prevalencia entre las muestras de suelo analizadas, fue el género *Vexilifera* (Fig. 2f) perteneciente a la misma clase, pero de la Subclase Dactylopodia y de la familia Vexilliferidae mostrando el influjo de corrientes marinas a los manglares (Figs. 2f y 2g), (WoRMS). *Vexillifera* (Fig. 2j), un género con muy baja prevalencia, entre las muestras de suelo, fue otro género marino también identificado en estas; este género perteneciente a la Clase Lobosea, Subclase Amoebida, y de la Familia Amoebidae (WoRMS).



**Figura 2.** Identificación de géneros de amebas de vida libre (*Gymnamoeba*) y amebas marinas y testadas en muestras de sedimentos. Un gramo de cada muestra de sedimento fue diluido y tamizado varias veces hasta obtener sobrenadante; y tratado para la tinción con sonda de ADN (DAPI) y finalmente se realizaron análisis por microscopia de fluorescencia de acuerdo a Materiales y Métodos.

a. *Acanthamoeba* Volkonsky, 1931. Estas especies fueron identificadas a partir de muestras de suelo tomadas a diferentes niveles del ecosistema de los manglares, y luego las mismas fueron tamizadas y tratadas para separar las partículas del suelo, y realizar posteriormente la tinción con la sonda de ADN para su estudio taxonómico, mediante las claves especializadas en amebas de vida libre y amebas testadas como fue descrito en materiales y métodos. *Acanthamoeba* Volkonsky, 1931. Caracterizadas por ser un género uninucleado y por la presencia de acantopodios o proyecciones de forma fina, flexible, truncado, y en el tope, parecido a *slim*. Evidencias de quistes poligonales, pudiendo ser *A. polyphaga*. De 10  $\mu\text{m}$  de longitud, de acuerdo a la Clave taxonómica Page (1976). Acceso en: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=120531> el 2025-06-14.

b. *Mayorella* sp. Schaeffer, 1926. Estas especies fueron identificadas a partir de muestras de suelo tomadas a diferentes niveles del ecosistema de los manglares, y luego las mismas fueron tamizadas y tratadas para separar las partículas del suelo, y realizar posteriormente la tinción con la sonda de ADN para su estudio taxonómico, mediante las claves especializadas en amebas de vida libre y amebas testadas como fue descrito en materiales y métodos. *Mayorella* sp. Schaeffer, 1926. Se caracterizan por presentar seudópodos en forma de dedos, sin filo, y largo. De menos de 60  $\mu\text{m}$  de longitud, de acuerdo a la Clave taxonómica Page (1976) y al registro de especies marinas (Cita taxonómica: WoRMS, 2025). Acceso en: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=120551> el 2025-06-14.

c. *Vahlkampfia* sp. Chatton and Lalung-Bonnaire, 1912. Estas especies fueron identificadas a partir de muestras de suelo tomadas a diferentes niveles del ecosistema de los manglares, y luego las mismas fueron tamizadas y tratadas para separar las partículas del suelo, y realizar posteriormente la tinción con la sonda de ADN para su estudio taxonómico, mediante las claves especializadas en amebas de vida libre y amebas testadas como fue descrito en materiales y métodos. *Vahlkampfia* sp. Chatton and Lalung-Bonnaire, 1912. Se caracterizan por presenta varias constricciones a lo largo de su longitud, y un núcleo muy pronunciado. Sin evidencias de quistes y flagelos. De 10  $\mu\text{m}$  de longitud o más, de acuerdo a la Clave taxonómica Page (1976). Acceso en: World Register of Marine Species, en: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=120562> el 2025-06-14.

d. *Mayorella* sp. Idem b.

e. *Mayorella* sp. Idem b.

f. *Vexilifera* sp. Schaeffer, 1926. Estas especies fueron identificadas a partir de muestras de suelo tomadas a diferentes niveles del ecosistema de los manglares, y luego las mismas fueron tamizadas y tratadas para separar las partículas del suelo, y realizar posteriormente la tinción con la sonda de ADN para su estudio taxonómico, mediante las claves especializadas en amebas de vida libre y amebas testadas como fue descrito en materiales y métodos. *Vexilifera* sp. Schaeffer, 1926. Caracterizadas por pseudópodos delgados, nunca ramificado en el lado anterior de las células, que se asemejan a espinas. Sin evidencias de quistes. De menos de 10  $\mu\text{m}$  de longitud o más, de acuerdo al registro de especies marinas como Vexillifer Gasco, 1870: <https://www.marinespecies.org/aphia.phppp=taxdetails&id=298048> en 2025-06-14 (Siemensma 2019, Revisada 2025, Cita taxonómica: WoRMS 2025).

g. *Vexilifera* sp. Idem f.

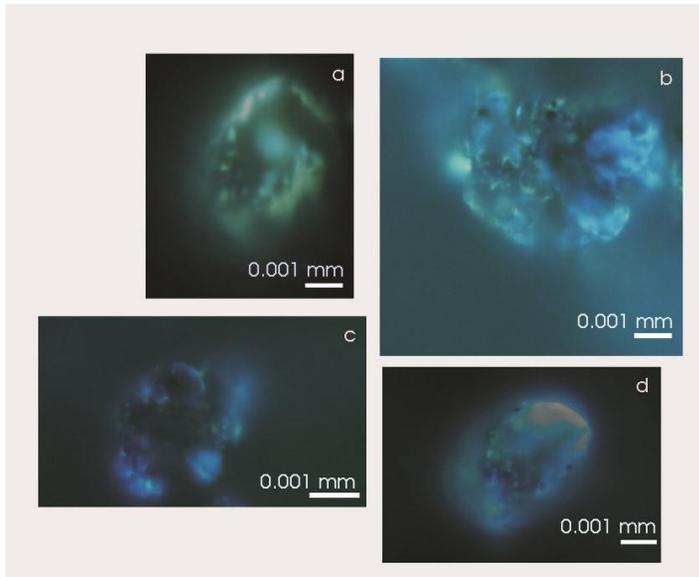
h. *Vannella* sp. Bovee, 1965. Estas especies fueron identificadas a partir de muestras de suelo tomadas a diferentes niveles del ecosistema de los manglares, y luego las mismas fueron tamizadas y tratadas para separar las partículas del suelo, y realizar posteriormente la tinción con la sonda de ADN para su estudio taxonómico, mediante las claves especializadas en amebas de vida libre y amebas testadas como fue descrito en materiales y métodos. *Vannella* sp. Bovee, 1965. Se caracterizan por presentar pseudópodos en forma de abanico a menudo semi-circular y hialino que ocupa la mitad de las células. Sin evidencias de quistes. De menos de 10  $\mu\text{m}$  de longitud o más, de acuerdo al registro de las especies marinas. Acceso como *Vannella* Page, 1979 en <https://www.marinespecies.org/aphia.phppp=taxdetails&id=120658> on 2025-06-14 (Siemensma 2019, Revisada 2025, Cita taxonómica: WoRMS 2025).

i. *Hartmannella* sp. Alexeieff, 1912. Estas especies fueron identificadas a partir de muestras de suelo tomadas a diferentes niveles del ecosistema de los manglares, y luego las mismas fueron tamizadas y tratadas para separar las partículas del suelo, y realizar posteriormente la tinción con la sonda de ADN para su estudio taxonómico mediante las claves especializadas en amebas de vida libre y amebas testadas como fue descrito en materiales y métodos. *Hartmannella* sp. Alexeieff, 1912. Presenta forma monopodial, con parte anterior hialina. Citoplasma con pequeños cristales y vacuolas contráctiles de forma redondeada. De 10  $\mu\text{m}$  de longitud o más, de acuerdo a la Clave

taxonómica Page (1976). Acceso como *Hartmannella* Alexeieff, 1912; en <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=120547> on 2025-06-14.

j. *Vexillifera* sp. Idem h.

Más extraordinariamente, las muestras de sedimentos analizadas con esta simple sonda fluorescente presentaron género de amebas testadas asociadas a ambientes marinos. Los géneros encontrados, aunque un rango muy estrecho pertenecientes a Clase Tubulinea, Subclase Arcellinida, la familia Arcellineadae fueron principalmente *Arcella* sp. y *Centropyxis* sp., de las cuales existen más de 4 especies. En la Figura 3 a-c, se muestra al género *Centropyxis*. El género más común entre las muestras de suelo del manglar veracruzano es el de *Arcella* sp., con al menos 4 especies de Arcellinidas (Figura 3 b-d).



**Figura 3.** Identificación de géneros de amebas testadas (Arcellinida) marinas en muestras de sedimentos. Un gramo de cada muestra de sedimento fue diluida y tamizada varias veces hasta obtener sobrenadante; y tratado para la tinción con sonda de ADN (DAPI) y finalmente se realizaron análisis por microscopia de fluorescencia de acuerdo a Materiales y Métodos.

a. *Centropyxis* sp./Stain 1857/ Amoeba testadas. Estas especies fueron identificadas a partir de muestras de suelo tomadas a diferentes niveles del ecosistema de los manglares, y luego las mismas fueron tamizadas y tratadas para separar las partículas del suelo, y realizar posteriormente la tinción con la sonda de ADN para su estudio taxonómico mediante las claves especializadas en amebas de vida libre y amebas testadas como fue descrito en materiales y métodos. *Centropyxis* sp./Stain 1857/ Amoeba testadas. Testa discoide, aplanada, algo en forma de boina. La superficie dorsal es redondeada, la ventral plana a cóncava, con una abertura ventral, que puede ser circular a irregular, pero desplazada hacia un extremo. La concha puede estar aplanada en el extremo de apertura. En el extremo posterior o en toda la periferia pueden estar presentes algunas espinas. La superficie de la concha es lisa, dorsalmente con más o menos partículas minerales o diatomeas, cementadas entre sí por un material orgánico, ventralmente de aspecto pulido debido a más cemento y granos mucho más pequeños en la concha. De 118  $\mu\text{m}$  de longitud o más y un diámetro de 90 $\mu\text{m}$  o más (Siemensma 2019, Revisada 2025)

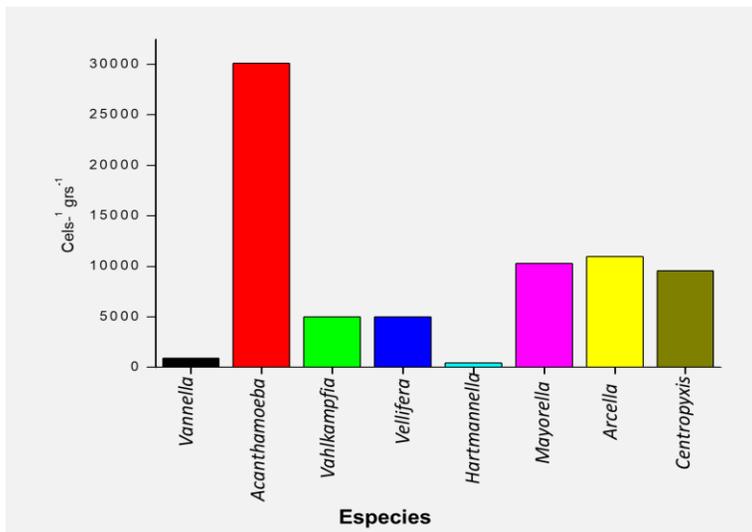
b. *Arcella* sp. Amebas testadas. Estas especies fueron identificadas a partir de muestras de suelo tomadas a diferentes niveles del ecosistema de los manglares, y luego las mismas fueron tamizadas y tratadas para separar las partículas del suelo, y realizar posteriormente la tinción con la sonda de ADN para su estudio taxonómico mediante las claves especializadas en amebas de vida libre y amebas testadas como fue descrito en materiales y métodos. Las especies de *Arcella* tienen conchas más o menos en forma de paraguas con una abertura central invaginada de donde emergen los lobopodios, seudópodos con forma de dedo. En vista dorsal, la concha varía desde circular o elíptica ancha hasta una forma cuadrada irregular. En vista lateral, la forma varía desde discoide aplanada hasta esférica. La mayoría de las especies tienen conchas hemisféricas. La abertura es normalmente circular y en algunas especies elíptica, en muchas especies rodeada por un tubo, pero nunca con un anillo de poros.

c. *Arcella* sp./Ehrenberg 1843/ Amebas testadas. Idem b.

d. *Centropyxis* sp. Idem a.

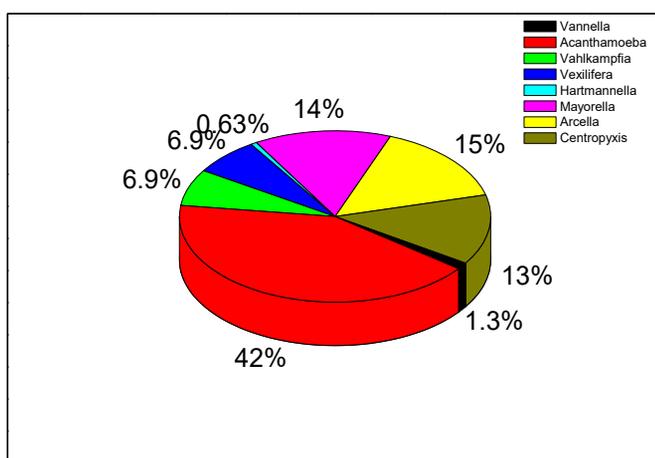
Una cuantificación de los protozoarios presentes en las muestras de suelo del manglar veracruzano mostro al grupo de las amebas de vida libre como una población abundante y con mayor diversidad, con representantes de varias clases de Gymna-

moeba y amebas de vida libre marinas. La Figura 4 muestra el número de amebas de vida libre y amebas testadas por gramo de sedimento en relación con el género encontrado en las muestras analizadas. *Acanthamoeba* es el género de amebas de vida libre en mayor proporción que las otras amebas de vida libre detectadas en estas muestras, situando a este grupo como exitoso en este ambiente, con  $3 \times 10^4$  organismos por gramo de sedimento. El otro grupo de amebas de vida libre que prevalece en estas muestras fue el de las amebas que pertenecen al género *Mayorella* sp., con  $1 \times 10^4$  organismos por gramos de sedimento. Otros grupos menos frecuentes, también, están presentes, tanto amebas de vida libre marinas, como otros géneros Lobosea asociadas a otras clases. Entre ellos, *Vahlkampfia* sp. presentó  $5 \times 10^3$  organismos por gramo de sedimento.



**Figura 4.** Principales grupos de amebas de vida libre y amebas testadas. Un gramo de cada muestra de sedimento fue diluida y tamizada varias veces hasta obtener sobrenadante; y tratado para la tinción con sonda de ADN (DAPI) y finalmente se realizaron análisis por microscopia de fluorescencia de acuerdo a Materiales y Métodos. Para la ponderación de las especies identificadas fueron cuantificadas 220 campos por cada muestra, usando la fórmula de concentración estándar, que incluye el número de especímenes identificados por el volumen. Ponderación de las principales amebas de vida libre identificadas en sedimentos. Preponderancia de los géneros de *Gymnamoeba*: *Acanthamoeba* sp. y *Mayorella* sp.

La Figura 5 también muestra los dos géneros de amebas testadas encontrados en las muestras de sedimentos. El género más abundante fue *Arcella* sp. del grupo de las Arcellinidas muy característicos de estos ambientes, con  $1 \times 10^4$  organismos por gramos de sedimento; el otro género de este grupo identificado fue *Centropyxis* sp. con  $9 \times 10^3$  organismos por gramo de sedimento. Entre los géneros de amebas de vida libre marinos *Vexilifera* sp. presentó  $5 \times 10^3$  organismos por gramo de sedimento. Dentro de los grupos tanto de amebas de vida marinos, como de las amebas de vida libre que son clásicamente Gimnamoebida se identificaron los géneros *Vannella* sp. y *Hartmannella* sp. que presentaron  $0.9 \times 10^2$  organismos por gramo de sedimento, y  $0.4 \times 10^2$  organismos por gramo de suelo, respectivamente.



**Figura 5.** Porcentaje de la prevalencia de las principales amebas de vida libre y amebas de vida libre marinas y testadas identificadas. Un gramo de cada muestra de sedimento fue diluida y tamizada varias veces hasta obtener sobrenadante; y tratado para la tinción con sonda de ADN (DAPI) y finalmente se realizaron análisis por microscopia de fluorescencia de acuerdo a Materiales y Métodos. Para la ponderación de las especies identificadas fue analizada por usando el software Microcal Origin-6 para el cálculo de la prevalencia de cada especie. Ponderación de las principales amebas de vida libre identificadas en sedimentos. Preponderancia de los géneros de Gymnamoeba: *Acanthamoeba* sp. y *Mayorella* sp

El porcentaje de preponderancia de cada grupo se presenta en la figura 4 que muestra al grupo de *Acanthamoeba* como el más abundante de los géneros identificados en las muestras de sedimento con 42%. El otro grupo en importancia fue el de *Mayorella* sp. con un 14%, el resto de los grupos que tienen importancia en estas muestras de sedimento fueron Arcelinidas, *Arcella* sp. y *Centropyxis* sp. con 14% y 13%, respectivamente. El resto de los géneros identificados no superaron el 6% en preponderancia (Fig. 5).

La prevalencia de estos organismos en un gramo de sedimento se muestra en la figura 5. Otras amebas de vida libre pertenecientes a Gymnamoeba se presentaron también en la composición de las muestras de sedimentos, y las más notorias fueron *Mayorella* sp. y *Vahlkampfia* sp. y amebas de vida libre marinas, como *Vexillifera* sp. (Fig. 5).

## DISCUSIÓN

Se identificaron 6 Géneros de origen marino en los sedimentos del banco de manglares veracruzanos que incluyen *Acanthamoeba* sp. principalmente, *Mayorella* sp., *Vannella* sp., *Vexillifera* sp., *Vahlkampfia* sp., *Hartmannella* sp., *Arcella* sp. y *Centropyxis* sp., que están clasificadas como se muestra a continuación: *Acanthamoeba* [Amebozoa, Longamoebida, Centroamoebida en Adl *et al.* (2012), Familia. Acanthamoebidae en Costello *et al.* (2001)]. *Mayorella* [Amebozoa, Longamoebida, Dermamoebida en Adl *et al.* (2012), Familia Paramobidae en Costello *et al.* 2001], *Vexillifera* [Discosea, Flabellinia, Dactylopodida, Adl *et al.* (2012), Familia Vexilliferidae en Costello *et al.* 2001], *Vahlkampfia* [Heterolobosea, Tetramitiae en Adl *et al.* (2012), Familia Vahlkampfiidae en Costello *et al.* (2001)], *Hartmannella* [Amebozoa. Euamoebida en Adl *et al.* (2012) en Costello *et al.* (2001) Familia Hartmannellidae], y *Vannella* [Amebozoa, Discosea, Vannellinidae en Adl *et al.* (2012) en Costello *et al.* (2001) Familia Vannellidae, género de origen marino Smirnov *et al.* (2007)], pertenecientes a Gimnamoeba y 2 géneros de amebas testadas, *Arcella* [Orden Arcellinida, Suborden Arcellina, Familia Arcelidae en Costello *et al.* (2001)], y *Centropyxis* [Suborden Difflugina, Familia Centropyxidae en Costello *et al.* (2001)] ambos Arcellinida.

*Acanthamoeba* sp. es la especie con más preponderancia alcanzado hasta 30.000 organismos por gramo de sedimento. *Mayorella* sp. presenta menos de 10.000 organismos por gramo de sedimento, y el resto de las especies presentan menos de 10.000 organismos por gramo de sedimento. Las especies de las amebas testadas identificadas fueron *Arcella* sp. y *Centropyxis* sp., estas presentaron 10.000 organismos por gramo de sedimento. *Acanthamoeba* sp. representa más del 42% del ensamblaje de la rizósfera de los manglares veracruzanos. El DAPI y la microscopia de fluorescencia permitieron la identificación de estos géneros de amebas de vida libre y amebas testadas.

La preponderancia de las especies del *Phylum* Amebozoa ha sido establecida en un estudio genómico ambiental en suelo, siendo la abundancia menor en los ambientes marinos, en lagos y otros ambientes prístinos; el rango taxonómico de los Amebozoa, se divide en tres grupos Lobosa, Variosea y Mycetozoa, de los cuales especies miembros de Lobosa presentaron más  $1349 \pm 71$  secuencias genómicas en el ecosistema de suelo (Singer *et al.* 2021); ratificando con esto que la mayor abundancia de especies son los miembros del rango taxonómico de los Amebozoa, tal y como observamos en este estudio.

Fiore-Donno *et al.* (2016), en humedales encontraron al igual que en este estudio, que *Acanthamoeba* es el morfotipo más común y abundante en sedimentos de humedales, usando más de 1240 sondas genéticas del “Eucariota Universal”. En este caso se incluyeron a las especies de *Acanthamoeba* en el *Phylum* Amebozoa, tal y como está determinado por Adl *et al.* (2012).

Similarmente a este estudio, Gallegos-Neyra *et al.* (2018) encontraron que las especies *Acanthamoeba* sp, *Mayorella* sp., y *Vannella* sp. fueron las más abundantes en playas de Tuxpan (Veracruz, México), sin embargo, la técnica no es comparable, debido, a que en este trabajo se realizó con la metodología clásica del cultivo y aislamiento de los morfotipos, en contraste con la metodología utilizada en el presente estudio, en la que fue realizado un rastreo e identificación a partir de una sonda fluorescente DAPI. Similarmente a los resultados presentados aquí, Gallegos-Neyra *et al.* (2018) encontraron que el morfotipo de *Acanthamoeba* sp., presentó también la mayor abundancia, con respecto a las otras especies identificadas.

La abundancia de las especies de *Acanthamoeba* fue observada en humedales pre-Andinos hiperaridos del desierto de Atacama en el norte de Chile en muestras de sedimentos, como ha sido observada en este estudio (Salazar-Ardiles *et al.* 2022). Similarmente a nuestro trabajo, Tomassini *et al.* (2024) encontraron *Acanthamoeba* sp. en humedales costeros marinos y mar bonaerense, estableciendo la prepotencia de las especies del género *Acanthamoeba* en el ambiente.

Similarmente a este estudio, Sigala *et al.* (2016), en un estudio realizado sobre varios lagos en México encontraron especies de amebas testadas, entre ellas y con mayor abundancia se identificó al morfotipo *Centropyxis aculeata* var. *aculeata*, y otras especies del género de *Centropyxis*, y especies del género *Arcella*, muchas de las cuales son endémicas de México.

En otro estudio realizado en lagos canadienses Frame y Hambone, lagos contaminados por actividades mineras, los ensamblajes de amebas testadas encontrados, al igual que el anterior estudio están integrados principalmente por *Centropyxis aculeata* var. *aculeata*, que parece ser el morfotipo más común en el pacífico de América del Norte (Nasser *et al.* 2020). Smith *et al.* (2008), plantean un endemismo regional, en los cuales existen especies de amebas testadas propias de cada región. En el caso específico del presente trabajo se encontró también el morfotipo *Centropyxis* sp., ratificando la presencia de esta especie en los ambientes marinos del Golfo de México.

Los resultados de esta investigación son inéditos desde el punto de vista de la identificación de varios morfotipos (Termino acotado por Finlay 2004) de amebas desnudas o de vida libre (Compilado por Rogerson and Andrew Goodkov citado en Costello *et al.* 2001) y amebas testadas (Compilado por Ralf Meisterfeld citada en Costello *et al.* 2001), usando la sonda de DAPI, una sonda que interacciona con el Adenina-Timina de ADN. Munyenembe *et al.* (2021), también utilizan esta sonda DAPI para identificar ciliados, sin embargo, sus resultados sobre la identificación de amebas testadas con esta sonda fueron negativos. Aquí, en el presente trabajo usando DAPI se identificaron amebas de vida desnudas marinas y amebas de testadas. En este sentido, este trabajo es inédito, por la identificación de amebas de vidas libre desnudas y testadas en muestras de sedimento del banco de manglares. Los bancos de manglares veracruzanos han sido poco estudiados en cuanto a su microbiota, y espe-

cialmente a la biodiversidad de amebas de vida de vida libre desnudas y testadas, siendo este trabajo un aporte en este sentido.

## AGRADECIMIENTOS

A mis alumnos: Uzmar de Jesús Gómez Yáñez, Alejandro Aguilera Castrejón, Marcelo Navarro Díaz, Sandra Berenice Villegas García, Víctor Mejía por su colaboración en el muestreo.

A la profesora Laura González Reséndiz, quien fuese mi compañera de Laboratorio en las prácticas de protistas y algas en la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México.

A CONACYT Por la Beca de Postdoctorado en el Programa De Estancias Posdoctorales y Sabáticos Nacionales. 2009-2011.

## LITERATURA CITADA

ADL, S. M., A. G. B. SIMPSON, C. E. LANE, J. LUKEŠ, D. BASS, S. S. BOWSER, M. W. BROWN, F. BURKI, M. DUNTHORN, V. HAMPL, A. HEISS, M. HOPPENRATH, E. LARA, L. L. GALL, D. H. LYNN, H. MCMANUS, E. A. D. MITCHELL, S. E. MOZLEY-STANRIDGE, L. W. PARFREY, J. PAWLOWSKI, S. RUECKERT, L. SHADWICK, C. L. SCHOCH, A. SMIRNOV y W. FREDERICK. 2012. The Revised Classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 59: 429-514.

BOVEE, E. C. y K. SAWYER THOMAS. 1979. Marine flora and fauna of the northeastern United States. Protozoa: Sarcodina: amoebae. Seattle: National Marine Fisheries Service. Penn State University. U.S.A. 64pp.

CONABIO. 2009. Manglares de México: Extensión y distribución. 2ª ed. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 99 pp.

COSTELLO, M. J., C. S. EMBLOW y R. WHITE (EDITORS). 2001. European Register of Marine Species. A check-list of the marine species in Europe and a bibliography of guides to their identification. *Patrimoines Naturels*. 50: 463 p.

FINLAY, B. J. 2004. Protist taxonomy: an ecological perspective. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 359: 599-610.

FIGLIANO, A. M., J. WEINERT, T. WUBET y M. BONKOWSKI. 2016. Metacommunity analysis of amoeboid protists in grassland soils. *Sci. Rep.* 6: 19068. DOI: 10.1038/srep19068

GALLEGOS-NEYRA, E. M., A. LUGO-VÁZQUEZ, A. CALDERÓN-VEGA, M. R. SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ Y R. MAYÉN-ESTRADA. 2014. Biodiversidad de protistas amébidos de vida libre en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, Supl. 85: S10-S25, 2014. DOI: 10.7550/rmb.33691

GALLEGOS-NEYRA, E. M., J. M. BECERRA-CIGARROA, M. G. FIGUEROA-MÉNDEZ, S. A. FUENTES-ZUNO, A. R. HERNÁNDEZ-ZAMARRIPA, M. J. MENDOZA-ROMERO, A. D. CORONA ARZOLA, D. I. JAVIER-VENEGAS y G. S. VILLA-DELAVEQUIA. 2018. Amibas de vida libre en playas de Tuxpan y Arrecife Ingeniero, Veracruz, México. *Revista de Zoología* 29: 1-5.

GÓMEZ-YÁÑEZ, U. J., V. H. MEJÍA-GUTIÉRREZ., M. NAVARRO-DÍAZ., S. B. VILLEGAS-GARCÍA, S. B. PERTUZ-BELLOSO Y M. L. GONZÁLEZ-RESÉNDIZ. 2011. Biodiversidad de protozoos, una introducción a su estudio con muestras de suelo del Manglar en el Morro de la Mancha; Veracruz (México). Poster. III Coloquio Estudiantil de Investigaciones con protistas, 31 de mayo al 2 de junio de 2011, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, distrito federal, México.

MEDIA CYBERNETICS. *IMAGE-PRO* [Software]. 2002. Disponible en <https://mediacy.com/image-pro/>.

MICROCAL TM ORIGIN. *MICROCAL* Version 6.0 [Software]. 1999. Disponible en <https://microcal.com>.

MUNYENYEMBE, K., T. CAITLIN, A. K. WEINER, L. A., KATZ y. YING. 2021. DAPI staining and DNA content estimation of nuclei in uncultivable microbial eukaryotes (Arcellinida and Ciliates). *Eur J. Protistol.* 81: 1-13. DOI: 10.1016/j.ejop.2021.125840

NASSER, N. A., R. T. PATTERSON, J. M. GALLOWAY y H. FALCK. 2020. Intra-lake response of Arcellinida (testate lobose amoebae) to gold mining-derived arsenic contamination in northern Canada: Implications for environmental monitoring. *Peer J*: 8: e9054. DOI 10.7717/peerj.9054

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. 2024. PubChem Compound Summary for CID 2954, 4',6-Diamidino-2-phenylindole. [Documento en línea]. Disponible en [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4\\_6-Diamidino-2-phenylindole](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4_6-Diamidino-2-phenylindole). [Consultado 15-12- 2024].

PAGE, F. C. 1976. An Illustrated to key: Freshwater and Soil Amoebae: With notes on Cultivation and Ecology. Editor. Freshwater Biological Association. U.S.A. 155pp. <https://archive.org/details/illustratedkeyto0000>.

PAGE, F. C. 1983. Marine Gymnamoebae. Institute of Terrestrial Ecology. Cambridge. UK. 54pp. <https://nora.nerc.ac.uk/id/eprint/5144>

PERTUZ, B. S. B. 1996. Remoción de quistes de *Giardia* sp. de aguas residuales por biotratamiento con plantas acuáticas, Jacinto de agua *Eichhornia crassipes*. Trabajo especial de grado, Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo. Venezuela. 105pp.

SALAZAR-ARDILES, C., A. PÉREZ-ARANCIBIA, L. ASSERELLA-REBOLLO Y B. GÓMEZ-SILVA. 2022. Presence of Free-living *Acanthamoeba* in Loa and Salado Rivers. *Microorganisms*. 10: 2315. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122315>.

SIEMENSMA, F. J. 2019. Visual Key: Lobose Testate Amoebae. Microworld, world of amoeboid organisms [Base de Datos] disponible en World-wide electronic publication, Kortenhoef. The Netherlands. [Consultado 19 de febrero del 2025].

SIGALA, I., S. LOZANO-GARCÍA, J. ESCOBAR, L. PÉREZ Y E. GALLEGOS-NEYRA. 2016. Testate Amoebae (Amebozoa: Arcellinida) in Tropical Lakes of Central Mexico. *Rev. Biol. Trop.* 64: 377-397.

SINGER, D., C. V. W. SEPPEY., A. G. LENTENDU, M. DUNTHORN, D. BASS, L. BELBAHRI, Q. BLANDENIER, Q. BLANDENIER, D. DEBROAS, G. GROOT, C. VARGAS, I. DOMAIZON, C. DUCKERT, I. IZAGUIRRE, I. KOENIG, G. MATALONI, M. R. SCHIAFFINO, E.A.D. MITCHELL, S. GEISEN, E. LARA. 2021. Protist taxonomic and functional diversity in soil, freshwater and marine ecosystems. *Environment International*. 146:1-8. DOI: 10.1016/j.envint.2020.106262

SMIRNOV, A. V., E. S. NASSONOVA, E. C., T. CAVALIER-SMITH. 2007. Phylogeny, evolution, and taxonomy of vannellid amoebae. *Protist*. 158:295-324. DOI: 10.1016/j.protis.2007.04.004

SMITH, H. G., A. BOBROV AND E. LARA. 2008. Diversity and biogeography of testate amoebae. *Biodiversity and Conservation*. 17: 329-343.

TOMASSINI, L., M. S. DOMINGUEZ, K. S. ESQUIUS Y V. R. RANDAZZO. 2024. Primer aislamiento de *Acanthamoeba* spp. en agua de mar del sudeste bonaerense, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*. 56: 221-226.

WoRMS 2025. *Mayorella* Schaeffer, 1926. [Documento en línea] Disponible en [<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=120551> on 2019-04-15]. [Consultado 20-02- 2025]

WoRMS 2025. *Vannella anglica* Page, 1980. [Documento en línea] Disponible en [<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=120657> on 2019-04-15]. [Consultado 20-02- 2025].

WoRMS 2025. *Vexilliferidae*. [Documento en línea] Disponible en [<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=22725> on 2019-04-15]. [Consultado 19-02- 2025]

ISSN2477-9458

**BOLETIN**  
**DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS**  
AN INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGY  
PUBLISHED BY THE UNIVERSITY OF ZULIA, MARACAIBO, VENEZUELA  
Vol. 59, No1, Pp. 1-79, January-June 2025

<b>Nota sobre la distribución mundial de <i>Paracymus</i> Thomson, 1867 (Coleoptera: Hydrophilidae) en cinco regiones biogeográficas.</b> <i>Mauricio García y Nadiany Castillo</i> .....	1
<b><i>Laguncularia racemosa</i> (L.) Gaertn. más que halófito es una especie halotolerante.</b> <i>Ana Marta Francisco</i> .....	12
<b>Identification of free living amoeba and testate amoeba from sediments using to ADN probes.</b> <i>Silvana Pertuz Belloso</i> .....	33
<b>Communication Brief.</b>	
<b>New record of <i>Dysdercus collaris</i> Blöte, 1931 (Hemiptera: Heteroptera: Pyrrhocoridae) as a host of <i>Pavonia paniculata</i> Cav. (Malvales: Malvaceae).</b> <i>Jorge Gámez</i> .....	53
<b>Instrucciones a los autores</b> .....	60
<b>Instructions for authors</b> .....	70